

**CAMPYLOBACTER BLOOD
FREE MEDIUM BASE BOLTON****BOLTON CCDA
ANTIMICROBIC SUPPLEMENT**

**Terreno di base, supplemento selettivo e flaconi pronti all'uso
per l'isolamento di *Campylobacter***

FORMULE TIPICHE**Campylobacter Blood Free Medium Base Bolton (g/L)**

Estratto di carne	10.00
Peptone	10.00
Triptone	3.00
Sodio cloruro	5.00
Carbone vegetale	4.00
Sodio desossicolato	1.00
Ferro solfato	0.25
Sodio piruvato	0.25
Agar	15.00

Bolton Antimicrobial Supplement (x fiala)

Cefoperazone	16 mg
Anfotericina B	5 mg

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 24.5 g di Campylobacter Blood Free Medium Base Bolton in 500 mL di acqua distillata fredda. Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121°C per 15 minuti. Raffreddare a 50°C ed aggiungere, con le cautele dell'asepsi, il contenuto di una fiala di Bolton Antimicrobial Supplement (REF4240020), ricostituita con 5 mL di acqua distillata sterile.

PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

In un bagnomaria termoregolato a 100°C introdurre i flaconi e riscaldare fino a scioglimento completo. Raffreddare a 45-50°C e, con le cautele dell'asepsi, aggiungere 1 ml di Bolton Antimicrobial Supplement (REF4240020), ricostituito con 5 mL di acqua distillata sterile.

pH finale: 7.4 ± 0.2

DESCRIZIONE

Il terreno di base, il supplemento selettivo sono preparati in accordo alla formula descritta da Bolton, Hutchinson e Coates e riportata da ISO 10272.

Il terreno CCDA (Caseina Cefoperazone Desossicolato Agar) è indicato per l'isolamento di *C. coli*, *C. jejuni* e dei campylobacter termofili resistenti all'acido nalidissico da campioni fecali umani. Merino e coll. hanno comparato il terreno CCDA con 6 differenti formulazioni per l'isolamento di Campylobacter (Butzler, Blaser Wang. Preston modificato, Butzler Virion); i risultati indicano che sul terreno CCDA si ottiene una migliore crescita di *C. jejuni* ed una migliore inibizione della flora contaminante. Anche Bolton riporta migliori percentuali d'isolamento dei Campylobacter con il terreno CCDA.

Il terreno CCDA è indicato dalle norme ISO 10272-1/2/3 per la determinazione qualitativa o semiquantitativa e per il conteggio di *Campylobacter* spp negli alimenti e mangimi.

Metodo per la determinazione di *Campylobacter* spp. in campioni alimentari:

- Preparare la sospensione madre 1:10 del campione nel brodo di arricchimento aggiungendo x g o x ml di campione a 9x g o 9x ml di brodo Bolton completo.
- Incubare a 37°C per 4-6 ore in condizioni microaerofile ed in seguito incubare a 41,5°C per 44 ± 4 ore in condizioni microaerofile.
- Introdurre un'ansa sterile nella provetta e scaricare sulla superficie di una piastra di terreno Campylobacter Blood Free Medium CCDA Bolton, addizionato dei supplementi appropriati.
- Allo stesso modo seminare un'ansata di brodo d'arricchimento sulla superficie di un secondo terreno di coltura, scelto dall'utilizzatore tra i terreni Karmali, Skirrow o Preston.

- Spatolare l'intera superficie delle piastre per ottenere colonie ben isolate ed incubare a 41,5°C per 44 ± 4 ore in atmosfera microaerofila.
- Osservare per la presenza di colonie tipiche; su *Campylobacter Blood Free Medium Bolton* le colonie di *Campylobacter* sono spesso piatte, umide con la tendenza a sciamare e con un riflesso metallico.
- Selezionare da ogni piastra 1 colonia tipiche ed ulteriori 4 colonie se la prima risultasse negativa, per i test di conferma.

CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE

Controllo della produttività

C.jejuni ATCC 33291: buona crescita

Controllo della selettività

E.coli ATCC 25922: inibito

Incubazione: 48 h a 42°C, microaerofilia

CONSERVAZIONE

Terreno in polvere: conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Una volta aperto, conservare il prodotto mantenendo il tappo del contenitore ben chiuso. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.).

Supplemento selettivo: conservare fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, a 2 - 8°C.

Terreno in flacone e in piastra: Conservare a +2°C / +8°C al riparo della luce. In queste condizioni il prodotto rimane valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre la data di scadenza. Non utilizzare se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, colore alterato).

PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI

Terreno in polvere, flaconi e piastre pronte all'uso: i preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni ≥1%. Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del *Campylobacter Blood Free Agar Base* deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Supplemento selettivo: il preparato qui descritto contiene cefoperazone ed anfotericina B. Consultare la scheda di sicurezza prima dell'impiego.

I prodotti qui descritti devono essere usati in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare piastre e provette dopo l'uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.

BIBLIOGRAFIA

- Penner, J.L. (1988) Clin. Microbiol. Rev., **1**, 157 - 172.
- Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., Coates, D. (1984) Eur. J. Clin. Microbiol., **5**, 466-468
- Bolton, F.J., Hutchinson, D.N., Coates, D. (1986) J. App. Bacteriol. **56**, 151-157
- Merino, F.J. et al. (1986) J. Clin. Microbiol. **24**, 451-452.
- ISO 10272-1:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 1: Detection method.
- ISO/TS 10272-2:2006 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 2: Colony-count technique
- ISO/TS 10272-3:2010 - Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Horizontal method for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. -- Part 3: Semi-quantitative method

CONFEZIONI

Terreno in polvere

4012822 **Campylobacter Blood Free Medium Base Bolton (mCCDA),** 500 g (10,3L)

Supplemento selettivo

4240020 **Bolton CCDA Antimicrobial Supplement** 10 fiale, ciascuna per 500 mL

Flaconi pronti all'uso

5112822 **Campylobacter Blood Free Medium Base Bolton (mCCDA)** 6 flaconi da 100 ml

Piastre pronte all'uso:

541113 **Campylobacter Blood Free Agar (CCDA Bolton)** 20 piastre diam. 90 mm